

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2002-207022
 (43)Date of publication of application : 26.07.2002

(51)Int.CI. G01N 27/327
 G01N 27/416
 G01N 33/483
 G01N 33/566

(21)Application number : 2001-088176 (71)Applicant : MATSUSHITA ELECTRIC IND CO LTD

(22)Date of filing : 26.03.2001 (72)Inventor : TOKUNAGA HIROYUKI
 MIYAZAKI MASAJI
 FUJIWARA MASAKI
 NAKAYAMA JUNKO
 YAMANISHI ERIKO

(30)Priority

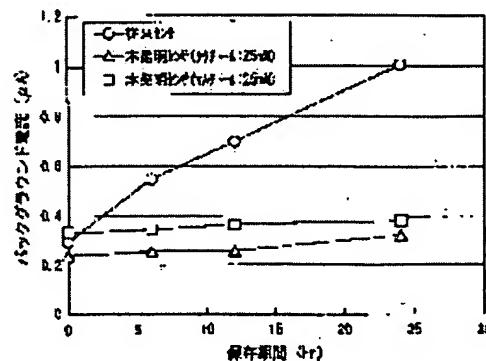
Priority number : 2000342537 Priority date : 09.11.2000 Priority country : JP

(54) BIOSENSOR

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a reagent layer capable of suppressing a background current (noise) rising with the elapse of time especially in the presence of heat or moisture, in a biosensor for analyzing a specific component in a liquid specimen.

SOLUTION: Sugar alcohol or a metal salt is added to the reagent layer 5 provided on an insulating substrate 1 as an additive for suppressing rise with the elapse of time of the background current.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2002-207022

(P2002-207022A)

(43)公開日 平成14年7月26日 (2002.7.26)

(51)Int.Cl.⁷

G 0 1 N 27/327
27/416
33/483
33/566

識別記号

F I

G 0 1 N 33/483
33/566
27/30

テ-マコ-ド(参考)

F 2 G 0 4 5
3 5 3 F
3 5 3 P
3 5 3 R

審査請求 未請求 請求項の数13 O.L (全 9 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001-88176(P2001-88176)

(71)出願人 000005821

松下電器産業株式会社
大阪府門真市大字門真1006番地

(22)出願日 平成13年3月26日 (2001.3.26)

(72)発明者 徳永 博之

香川県高松市古新町8番地の1 松下電子工業株式会社内

(31)優先権主張番号 特願2000-342537(P2000-342537)

(72)発明者 宮崎 正次

香川県高松市古新町8番地の1 松下電子工業株式会社内

(32)優先日 平成12年11月9日 (2000.11.9)

(74)代理人 100081813

弁理士 早瀬 憲一

(33)優先権主張国 日本 (JP)

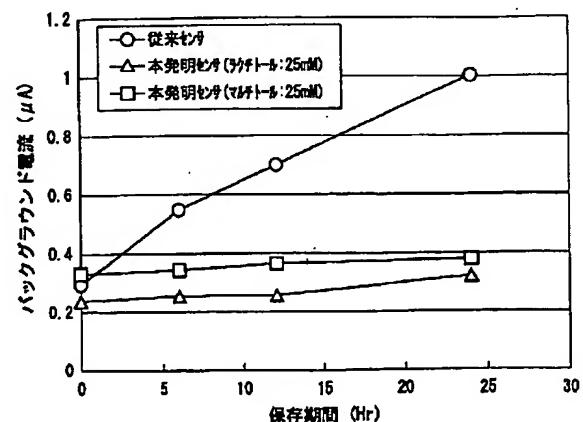
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 バイオセンサ

(57)【要約】

【課題】 液体試料中の特定の成分を分析するバイオセンサにおいて、特に熱や水分の介在下において経時的に上昇するバックグラウンド電流(ノイズ)を抑制することが可能な試薬層を有するバイオセンサを提供することを目的とする。

【解決手段】 絶縁性基板1上に設けられた試薬層5に、バックグラウンド電流の経時的な上昇を抑制するための添加剤として、糖アルコール、もしくは金属塩を含む構成とする。



(2)

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 試料溶液中の特定物質の濃度を計測するバイオセンサにおいて、

試料溶液に溶解され、試料溶液中の特定物質と特異的に反応するように予め設けられる試薬層中に糖アルコールを含むことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 2】 請求項 1 に記載のバイオセンサにおいて、

前記特定物質の濃度を、絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極からなる電極を用いて計測することを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 3】 請求項 2 に記載のバイオセンサにおいて、

前記試薬層が、前記電極上、または当該試薬層の試薬が試料液に溶解して拡散する拡散エリア内に電極が配置されるよう、形成され、該試薬層が、少なくとも酵素および電子伝達体を含むことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 4】 請求項 1 から請求項 3 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記糖アルコールが、鎖状の多価アルコール、もしくは、環式糖アルコール、あるいはそれらの置換体もしくは誘導体であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 5】 請求項 1 から請求項 3 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記糖アルコールがマルチトール、ラクチトールのいずれか、または両方であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 6】 試料溶液中の特定物質の濃度を計測するバイオセンサにおいて、

試料溶液に溶解され、試料溶液中の特定物質と特異的に反応するように予め設けられる試薬層中に金属塩を含むことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 7】 請求項 6 に記載のバイオセンサにおいて、

前記特定物質の濃度を、絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極からなる電極を用いて計測することを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 8】 請求項 7 に記載のバイオセンサにおいて、

前記試薬層が、前記電極上、または当該試薬層の試薬が試料液に溶解して拡散する拡散エリア内に電極が配置されるよう、形成され、該試薬層が、少なくとも酵素および電子伝達体を含むことを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 9】 請求項 6 から請求項 8 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記金属塩が硫酸金属塩、硫酸水素金属塩、亜硫酸金属塩、亜硫酸水素金属塩、あるいは次亜硫酸金属塩であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 10】 請求項 6 から請求項 8 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記金属塩が、硫酸マグネシウム、硫酸カルシウムのいずれかまたは両方であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 11】 請求項 6 から請求項 8 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記金属塩が硝酸金属塩、硝酸水素金属塩、亜硝酸金属塩、亜硝酸水素金属塩あるいは次亜硝酸金属塩であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 12】 請求項 6 から請求項 8 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記金属塩が、硝酸マグネシウム、硝酸カルシウムのいずれかまたは両方であることを特徴とするバイオセンサ。

【請求項 13】 請求項 1 から請求項 12 のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、

前記試薬層が、さらに親水性高分子を含むことを特徴とするバイオセンサ。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、液体試料中の特定の成分を分析するバイオセンサに関し、特に、バイオセンサの試薬層を構成する試薬構成に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 バイオセンサは、微生物、酵素、抗体等の生物材料の分子認識能力を利用し、生物材料を分子識別素子として応用したセンサである。すなわち、固定化された生物材料が、目的の特定物質を認識したときに起こる反応、微生物の呼吸による酸素の消費、酵素反応、発光などを利用したものである。

【0003】 バイオセンサの中でも酵素センサの実用化は進んでおり、例えば、グルコース、乳酸、コレステロール、ラクトース、尿素、アミノ酸用の酵素センサは、医療計測や食品工業に利用されている。酵素センサは、検体である試料液に含まれる基質と酵素との反応により生成する電子によって電子受容体を還元し、測定装置がその電子受容体の還元量を電気化学的に計測することにより、検体の定量分析を行う。このようなバイオセンサの一例として、例えば、特願平11-324511号で提案されたようなセンサが知られている。

【0004】 図1は、3電極式のバイオセンサの一例を示す分解斜視図である。これは、ポリエチレンテレフタレートのような絶縁性基板1上に、電気伝導性物質からなる測定電極2（作用極とも言う）、対電極3（対極とも言う）ならびに検知電極4が形成されており、これら電極上には試料液中の特定成分と特異的に反応する酵素、及び電子伝達体、親水性高分子を含む試薬層5が形成されている。

【0005】 そして、試料液中の特定成分と試薬層5中の試薬との反応により生じる電流値を前記電極2、3、4で検出するためのキャビティを形成するため、電極お

(3)

3

より試薬層上の部分に細長い切り欠け部7を有したスペーサ6と、空気孔9を形成したカバー8とを絶縁基板上に貼りあわせている。

【0006】このような構成のバイオセンサにおいて、試料液は、キャビティの入り口（試料液吸引口）から毛細管現象によりキャビティ内に供給され、電極と試薬層のある位置まで導かれる。そして試料液中の特定成分が試薬層の試薬と反応することにより、電流を生じ、生じた電流をバイオセンサのリードを通じて外部の測定装置が読み取ることにより、検体の定量分析が行われる。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】しかし、上述のような試薬構成のバイオセンサにおいて、熱や水分の介在下、特に、温度が30℃以上で湿度が80%以上の高温多湿環境下においては、試薬層5に含まれる酵素蛋白や親水性高分子の一部などと、電子伝達体との還元反応が生じるため、バックグラウンド電流（ノイズ電流）が発生し、経時にバックグラウンド電流値が上昇することにより、センサ性能が悪化するという問題が顕著に見られる。

【0008】また、これを解決するための手段として、アルミシールや樹脂などの成型容器を用いたバイオセンサ保存容器中に、シリカゲルや活性アルミナのような乾燥剤を封入することによって水分を除去し、センサ性能の悪化を防止するように工夫することができるが、このような乾燥剤だけではバイオセンサに含まれる試薬中に残存する分子レベルの水までを完全に除去することは不可能である。

【0009】また、上記保存容器においても、長期間にわたり水分の侵入を皆無（ゼロ）にするのは極めて困難であり、電子伝達体と酵素蛋白、親水性高分子の一部との還元反応は、極微量の水分が介在するだけで進行してしまうため、バックグラウンド電流の経時的な上昇を効果的に抑制することは極めて困難であるという問題点があった。本発明は、前記問題点に鑑みてなされたものであり、水分との接触によるバイオセンサの性能劣化を効率的に防止することができるバイオセンサを提供することを目的とする。

【0010】

【課題を解決するための手段】この発明の請求項1にかかるバイオセンサは、試料溶液中の特定物質の濃度を計測するバイオセンサにおいて、試料溶液に溶解され、試料溶液中の特定物質と特異的に反応するように予め設けられる試薬層中に糖アルコールを含むことを特徴とするものである。

【0011】また、本発明の請求項2にかかるバイオセンサは、請求項1に記載のバイオセンサにおいて、前記特定物質の濃度を、絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極からなる電極を用いて計測することを特徴とするものである。

4

【0012】また、本発明の請求項3にかかるバイオセンサは、請求項2に記載のバイオセンサにおいて、前記試薬層が、前記電極上、または当該試薬層の試薬が試料液に溶解して拡散する拡散エリア内に電極が配置されるよう、形成され、該試薬層が、少なくとも酵素および電子伝達体を含むことを特徴とするものである。

【0013】また、本発明の請求項4にかかるバイオセンサは、請求項1から請求項3のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記糖アルコールが、鎖状の多価アルコール、もしくは、環式糖アルコール、あるいはそれらの置換体もしくは誘導体であることを特徴とするものである。

【0014】また、本発明の請求項5にかかるバイオセンサは、請求項1から請求項3のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記糖アルコールがマルチトール、ラクチトールのいずれか、または両方であることを特徴とするものである。

【0015】また、本発明の請求項6にかかるバイオセンサは、試料溶液中の特定物質の濃度を計測するバイオセンサにおいて、試料溶液に溶解され、試料溶液中の特定物質と特異的に反応するように予め設けられる試薬層中に金属塩を含むことを特徴とするものである。

【0016】また、本発明の請求項7にかかるバイオセンサは、請求項6に記載のバイオセンサにおいて、前記特定物質の濃度を、絶縁性基板上に設けられた少なくとも作用極と対極からなる電極を用いて計測することを特徴とするものである。

【0017】また、本発明の請求項8にかかるバイオセンサは、請求項7に記載のバイオセンサにおいて、前記試薬層が、前記電極上、または当該試薬層の試薬が試料液に溶解して拡散する拡散エリア内に電極が配置されるよう、形成され、該試薬層が、少なくとも酵素および電子伝達体を含むことを特徴とするものである。

【0018】また、本発明の請求項9にかかるバイオセンサは、請求項6から請求項8のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記金属塩が硫酸金属塩、硫酸水素金属塩、亜硫酸金属塩、亜硫酸水素金属塩、あるいは次亜硫酸金属塩であることを特徴とするものである。

【0019】また、本発明の請求項10にかかるバイオセンサは、請求項6から請求項8のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記金属塩が、硫酸マグネシウム、硫酸カルシウムのいずれかまたは両方であることを特徴とするものである。

【0020】また、本発明の請求項11にかかるバイオセンサは、請求項6から請求項8のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記金属塩が硝酸金属塩、硝酸水素金属塩、亜硝酸金属塩、亜硝酸水素金属塩あるいは次亜硝酸金属塩であることを特徴とするものである。

【0021】また、本発明の請求項12にかかるバイオセンサは、請求項6から請求項8のいずれかに記載のバ

(4)

5

イオセンサにおいて、前記金属塩が、硝酸マグネシウム、硝酸カルシウムのいずれかまたは両方であることを特徴とするものである。

【0022】また、本発明の請求項13にかかるバイオセンサは、請求項1から請求項12のいずれかに記載のバイオセンサにおいて、前記試薬層が、さらに親水性高分子を含むことを特徴とするものである。

【0023】

【発明の実施の形態】(実施の形態1)以下に、本発明の実施の形態1によるバイオセンサについて説明する。なお、以下に説明する本発明の各実施の形態では、試料液中の特定物質と特異的に反応する分子識別素子として酵素を用いる酵素センサを例にとって説明することにする。

【0024】図1は、3電極方式のバイオセンサの分解斜視図の一例である。図1において、1は絶縁性の基板であり、この絶縁性の基板1上には、電気伝導性物質からなる測定電極2、対電極3、検知電極4がそれぞれ所定の位置、及び形状をもって形成されており、検知電極4は、検体量の不足を検知するための電極として機能するだけでなく、参照電極あるいは対電極の一部として用いることも可能である。

【0025】なお、好適な上記絶縁性基板1の材料としては、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、ポリイミドなどがある。また、各電極を構成する電気伝導性物質としては、金、白金、パラジウムなどの貴金属やカーボンなどの単体材料、あるいは、カーボンペーストや貴金属ペーストなどの複合材料があげられる。

【0026】なお、金、白金、パラジウムなどの貴金属やカーボンなどの単体材料、は、スパッタリング蒸着法などで、またカーボンペーストや貴金属ペーストなどの複合材料はスクリーン印刷法などを用いて容易に電気伝導性層を絶縁性基板1に形成することができる。

【0027】また、各電極の形成においては、上述したスパッタリング蒸着法やスクリーン印刷法などにより絶縁性基板1の全面、もしくは一部に前記電気伝導性層を形成した後、レーザなどを用いてスリットを設けることにより電極を分割形成することができる。また、あらかじめ電極パターンの形成された印刷版やマスク版を用いたスクリーン印刷法やスパッタリング蒸着法などでも同様に電極を形成することが可能である。このようにして形成された電極上には、酵素、電子伝達体、親水性高分子、及び糖アルコールを含む試薬層5が形成される。

【0028】本発明の実施の形態1は、試薬層5中に糖アルコールを含むことを特徴とするものであり、この糖アルコールは、電極上に形成された試薬層5中において、酸化型の電子伝達体と、試薬中に含まれる酵素蛋白及び親水性高分子などに存在する反応性に富んだ一部の官能基などと、が接触して、電子伝達体が酸化型から還元型に変性する(還元される)ことを抑制する働きがあ

6

る。

【0029】そのため、上述の様な試薬構成のバイオセンサにおいて、熱や水分の介在下、特に温度が30℃以上で湿度が80%以上の高温多湿環境下において、試薬層5に含まれる酵素蛋白や親水性高分子の一部などと、電子伝達体との還元反応が生じることにより発生し、経時に上昇するバックグラウンド電流(ノイズ電流)を抑制することができるため、バイオセンサの性能が悪化することを防ぐことができる。

【0030】また、さらには、糖アルコールを試薬層中に含むことにより、血液中、特には血球に存在する様々な共雑物質との不必要的反応をも併せて抑制することができるため、直線性の良好な(回帰式の傾きが大きく切片が小さい)、かつ、センサ個々のバラツキの少ない、高性能なバイオセンサを提供することができる。

【0031】なお、試薬層5中に含まれる前記糖アルコールとしては、ソルビトール、マルチトール、キシリトール、マンニトール、ラクチトール、還元パラチノース、アラビニトール、グリセロール、リビトール、ガラクトートール、セドヘプチトール、ペルセイトール、ボレミトール、スチラシトール、ポリガリトール、イジトール、タリトール、アリトール、イシリトール、還元澱粉糖化物、イシリトールなどの鎖状の多価アルコールや環式糖アルコールがあげられる。

【0032】また、これらの糖アルコールの立体異性体、置換体または誘導体であっても同様の効果を得ることができる。また、これらの糖アルコールの中でも、マルチトール、ラクチトールは比較的材料単価が安く、容易に入手もでき、また、前記バックグラウンド電流を抑制する効果が飛躍的に高いため最も好適な材料であると言える。

【0033】なお、これら糖アルコールの添加量は、試薬溶液濃度として0.1~500mMが適当であり、より好適には1~100mMである。

【0034】なお、図1に示すバイオセンサは、その後、このように形成された試薬層5及び電極2、3、4上に、切り欠け部7を有するスペーサ6とカバー8とを貼り合わせることにより、試料液が供給されるキャビティが形成される。

【0035】なお、上記スペーサ6およびカバー8の好適な材料としては、ポリエチレンテレフタレート、ポリカーボネート、ポリイミド、ポリブチレンテレフタレート、ポリアミド、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ナイロンなどがあげられる。

【0036】また、このようなキャビティから構成されたバイオセンサへの試料液供給は毛細管現象により実現されるが、試料液のスムーズな供給を実現するうえでは、キャビティ内にバイオセンサ外部へ空気を逃がすための空気孔9が必要である。なお、空気孔9の配置は、試料液の供給を妨げない範囲であればキャビティ内のい

(5)

7

かかる位置でもよい。

【0037】このようにして形成されたバイオセンサにおいて、試料液中の特定成分と、酵素などを含む試薬層5との反応で得られた電流値は、測定電極2、対電極3、検知電極4のそれぞれのリード部10、11、12を通じて接続された外部の測定装置により読み取られる。

【0038】(実施の形態2)以下に、本発明の実施の形態2によるバイオセンサについて説明する。本発明の実施の形態2によるバイオセンサは、図1で示したバイオセンサの試薬層5が、酵素、電子伝達体、親水性高分子、及び金属塩により形成されているものである。なお、他の構成要素は、前述した実施の形態1によるバイオセンサと同様であるため説明を省略する。

【0039】本発明の実施の形態2は、試薬層5中に金属塩を含むことを特徴とするものであり、この金属塩は、電極上に形成された試薬層5中において、酸化型の電子伝達体と、試薬中に含まれる酵素蛋白、及び親水性高分子などに存在する反応性に富んだ一部の官能基などと、が接触して、電子伝達体が酸化型から還元型に変性する(還元される)ことを抑制する働きがある。

【0040】そのため、上述の様な試薬構成のバイオセンサにおいて、熱や水分の介在下、特に温度が30℃以上で湿度が80%以上の高温多湿環境下において、試薬層5に含まれる酵素蛋白や親水性高分子の一部などと、電子伝達体との還元反応が生じることにより発生し、経時的に上昇するバックグラウンド電流(ノイズ電流)を抑制することができるため、バイオセンサの性能が悪化することを防ぐことができる。

【0041】なお、試薬層5に含まれる金属塩としては、硫酸金属塩や硝酸金属塩などが特に効果的であり、例えば、硫酸金属塩、硫酸水素金属塩、亜硫酸金属塩、亜硫酸水素金属塩、あるいは次亜硫酸金属塩としては、硫酸アルミニウム、硫酸マグネシウム、硫酸亜鉛、硫酸アンチモン、硫酸インジウム、硫酸ウラニル、硫酸ウラン、硫酸カドミウム、硫酸カリウム、硫酸ガリウム、硫酸カルシウム、硫酸銀、硫酸クロム、硫酸コバルト、硫酸水素カリウム、硫酸ジルコニウム、硫酸水銀、硫酸すず、硫酸ストロンチウム、硫酸セシウム、硫酸セリウム、硫酸タリウム、硫酸チタン、硫酸鉄、硫酸銅、硫酸ナトリウム、硫酸鉛、硫酸ニッケル、硫酸ネオジム、硫酸バナジウム、硫酸パラジウム、硫酸バリウム、硫酸ビスマス、硫酸プラセオジム、硫酸ベリリウム、硫酸マンガン、硫酸ランタン、硫酸リチウム、硫酸ルビジウム、硫酸アルミニウムカリウム、硫酸アルミニウムナトリウム、硫酸ウラニルカリウム、硫酸カリウムクロム、硫酸ニナトリウムマグネシウム、硫酸マグネシウムニカリウム、硫酸マンガンセシウム、硫酸ルビジウムアルミニウム、硫酸水素カリウム、硫酸水素ナトリウム、亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム、亜硫酸ナトリウム、亜硫酸

10

バリウム、亜硫酸ビスマス、次亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素ナトリウムなどが、また、硝酸金属塩、硝酸水素金属塩、亜硝酸金属塩、亜硝酸水素金属塩、あるいは次亜硝酸金属塩としては、硝酸アルミニウム、硝酸マグネシウム、硝酸亜鉛、硫酸アンチモン、硝酸イッタルピウム、硝酸イットリウム、硝酸インジウム、硝酸ウラニル、硝酸エルビウム、硝酸カドミウム、硝酸ガドリニウム、硝酸カリウム、硝酸カルシウム、硝酸銀、硝酸クロム、硝酸コバルト、硝酸サマリウム、硝酸ジルコニウム、硝酸ジスプロシウム、硝酸水銀、硝酸すず、硝酸ストロンチウム、硝酸セシウム、硝酸セリウム、硝酸タリウム、硝酸鉄、硝酸テルビウム、硝酸銅、硝酸トリウム、硝酸ナトリウム、硝酸鉛、硝酸ニッケル、硝酸ネオジム、硝酸パラジウム、硝酸バリウム、硝酸ビスマス、硝酸プラセオジム、硝酸ベリリウム、硝酸ホルミウム、硝酸マンガン、硝酸ユウロビウム、硝酸ランタン、硝酸リチウム、硝酸ルテニウム、硝酸ルビジウム、硝酸ロジウム、硝酸タリウム水銀、亜硝酸カリウム、亜硝酸銀、亜硝酸カルシウム、亜硝酸ナトリウム、亜硝酸コバルトカリウム、亜硝酸コバルトナトリウム、次亜硝酸ナトリウムなどがあげられる。

【0042】また、これらの金属塩の中でも、特に硫酸マグネシウム、硫酸カルシウム、硝酸マグネシウム、硝酸カルシウムは吸湿防止効果が高く好適である。なお、これら金属塩の添加量は、試薬溶液濃度として0.1~500mMが適当であり、より好適には1~50mMである。

【0043】なお、本発明の実施の形態1、2では、上記試薬層5中に、糖アルコール、金属塩をそれぞれ添加した例を説明したが、さらにはそれらを組み合わせることでも同様の効果が得られる。また、前記実施の形態1、2の試薬中に含まれる酵素としては、グルコースオキシダーゼ、ラクテートオキシダーゼ、コレステロールオキシダーゼ、コレステロールエステラーゼ、ウリカーゼ、アスコルビン酸オキシダーゼ、ビリルビンオキシダーゼ、グルコースデヒドロゲナーゼ、ラクテートデヒドロゲナーゼなどを、電子伝達体としてはフェリシアン化カリウム、p-ベンゾキノンおよびその誘導体、フェナジンメトサルフェート、メチレンブルー、フェロセンおよびその誘導体などを用いることができる。

【0044】また、本発明の実施の形態1、2では、試薬層5中に親水性高分子を含むものについて説明したが、このように、試薬層5中に親水性高分子を含むことにより、試薬溶液に粘性を持たせ、電極への試薬形成を容易に均質にするとともに、電極と試薬との密着性を高める効果も得られる。さらに、試薬乾燥後の試薬結晶状態も、親水性高分子を含むことでムラなく均質となり、高精度なバイオセンサを作製することが可能になる。

【0045】以上のような目的で使用する親水性高分子としては、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエ

8

(6)

9

チルセルロース、ヒドロキシプロビルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、エチルヒドロキシエチルセルロース、カルボキシメチルエチルセルロール、ポリビニルアルコール、ポリビニルビロリドン、ポリリジン等のポリアミノ酸、ポリスチレンスルホン酸、ゼラチンおよびその誘導体、アクリル酸およびその塩、メタクリル酸およびその塩、スター-チおよびその誘導体、無水マレイン酸およびその塩、アガロースゲルおよびその誘導体などがあげられる。

【0046】また、本発明の実施の形態1、2では、前述した試薬層5が、電極上に設けられるものとして説明をしたが、具体的には、電極上の全面もしくは一部に試薬層5を配置することができ、また、それ以外にも、バイオセンサの性能を悪化させることのない範囲内、すなわち、試薬層中の試薬が試料液に溶解して拡散する拡散エリア内に電極が設けられるよう、試薬層5を配置してもよい。

【0047】

【実施例】（実施例1）ポリエチレンテレフタレートからなる絶縁基板上に、スパッタリング蒸着により前記絶縁基板の表面全面に約10nmの厚みのパラジウム薄膜を形成した後、YAGレーザにより、前記薄膜の一部にスリットを設けることにより、測定電極、対電極、および検知電極に、電極を分割形成した。その上に酵素（グルコースオキシターゼ）、電子伝達体（フェリシアン化カリウム）、親水性高分子（カルボキシメチルセルロース）、および糖アルコールを含んだ水溶液を前記測定電極を中心にして対電極ならびに検知電極の一部を覆うように円状に滴下し、乾燥させることで試薬層を形成した。さらにその上からポリエチレンテレフタレートからなる切欠部を有するスペーサと、同じくポリエチレンテレフタレートからなる空気孔を有するカバーとを貼り合わせることで、血液が導かれる毛細管となるキャビティが形成された3電極方式の血糖値測定センサを作製した。

【0048】図2は試薬溶液中に糖アルコールとしてラクチトールを添加した場合のセンサ応答特性を示すものであり、試料液が全血で、ラクチトール濃度を変化させた場合を4種類示すものである。また、図3は同様に糖アルコールとしてマルチトールを添加した場合で、マルチトール濃度を4種類に変化させたセンサの応答特性を示すものである。なお、ここでは糖アルコールの添加濃度（試薬水溶液としての濃度）を0としたものを従来センサとして取り扱い、5、10、25、50mMとしたものを本願のセンサとして用いた。

【0049】また、図4はこのようにして作製したセンサを用いて過酷環境下（温度30℃、湿度80%での曝露）でのバックグラウンド電流の経時的な変化を測定したものである。試料液としてはグルコースを含まない精製水を用いた。また、図5には試料液としてグルコース

10

濃度が80mg/dLに調整された全血を用いた場合の経時的なセンサ応答値の変化を示す。何れの場合も、測定時期は、センサ作製直後（0時間）、作製後6時間、12時間、24時間後の、計4ポイントである。

【0050】電流測定条件は、試料液がキャビティ内に充填されたのを確認した後、25秒間酵素反応を促進し、その後、測定電極と対電極および検出電極間に0.2Vの電圧を印加し、その5秒後に得られた電流値を測定した。なお、ここでは検知電極も対電極の一部として用いた。また、測定回数nは各濃度および測定時期ごとにn=10であり、図中にはその平均値をプロットしてある。

【0051】先に示した図2から明らかなように、糖アルコールであるラクチトールを添加したセンサ応答特性は、糖アルコールを含まない従来センサに比べ、特にグルコース濃度が400mg/dL以上の高濃度域で高応答値傾向を示しており、回帰式の良好な（切片が小さく傾きの大きい）優れた応答特性が得られていることがわかる。

【0052】また、図3から明らかなように、糖アルコールとしてマルチトールを用いた場合にも、前述のラクチトールを用いた場合と同様に、優れた応答特性が得られていることがわかる。

【0053】また、図4および図5から明らかなように、これらの糖アルコールの添加されたセンサにおいては、高温高湿度下の曝露環境下でのバックグラウンド電流の増加が効率的に抑制され、センサ応答値の経時的な変化が少ない優れた保存安定性が得られていることがわかる。

【0054】（実施例2）実施例1と同様な手順により血糖値測定センサを作製した。なお、ここでは、バックグラウンド電流の経時的な上昇を抑制するための添加剤として、糖アルコールの代わりに、硫酸金属塩である、硫酸マグネシウムを添加した。

【0055】図6はこのようにして作製したセンサを用いて過酷環境下（温度30℃、湿度80%での曝露）でのバックグラウンド電流の経時的な変化を測定したものであり、試料液としてはグルコースを含まない精製水を用いた。また、図7には、試料液としてグルコース濃度が80mg/dLに調整された全血を用いた場合の経時的なセンサ応答値の変化を示す。何れの場合も、測定時期はセンサ作製直後（0時間）、作製後6時間、12時間、24時間後の、計4ポイントである。なお、電流測定条件および測定回数nは、実施例1と同様である。

【0056】図6および図7から明らかなように、硫酸金属塩の添加されたセンサにおいても、実施例1の糖アルコールと同様に、高温高湿度下の曝露環境下でのバックグラウンド電流の増加が抑制され、センサ応答値の経時的な変化が少ない優れた保存安定性が得られていることがわかる。

(7)

11

【0057】なお、前記実施例1、2は血液中のグルコース濃度を測定するバイオセンサについて示したが、測定対象とする試料液、物質、およびバイオセンサの形式はこれに限定されるものではなく、例えば、対象試料液としては血液以外にも生体試料液として唾液、細胞間質液、尿や汗などを、また、食品や飲料水などをも用いることができる。また、対象物質としては、グルコース以外にも乳酸、コレステロール、尿酸、アスコルビン酸、ビリルビンなどを用いることができる。また、前記実施例1、2においては、電流測定方式として、図1で示した、測定電極2、対電極3、検知電極4からなる3電極方式を用いたが、その他、測定電極、対電極のみからなる2電極方式などがあり、何れの方式を用いてもよい。なお、3電極方式の方が2電極方式より正確な測定が可能である。

【0058】また、本実施例では、バイオセンサとして酵素センサを例に挙げて説明したが、本発明は、試料液中の特定物質と特異的に反応する分子識別素子として酵素以外に抗体、微生物、DNA、RNAなどを利用するバイオセンサにも、同様に適応することができる。

【0059】

【発明の効果】以上のように、本発明のバイオセンサによれば、絶縁性基板上に設けられた少なくとも測定電極と対電極からなる電極を用い、試料液中の測定対象物質と、上記電極上、またはその近傍に形成された少なくとも酵素、及び電子伝達体からなる試薬層との反応により得られる電流値から、該測定対象物質の含有量を計測するバイオセンサにおいて、上記試薬層中に糖アルコールを含むものとしたので、試薬中に糖アルコールを添加するという簡易な手法を用いることで酵素反応等を阻害することなく、経時的なバックグラウンド電流の上昇を抑制することができ、さらには、血液中に存在する様々な共雑物質との不必要的反応も併せて抑制できるため、直線性の良好な、センサ個々のバラツキが少ない高性能なバイオセンサを提供することができるという効果が得られる。

【0060】また、本発明のバイオセンサによれば、絶縁性基板上に設けられた少なくとも測定電極と対電極からなる電極を用い、試料液中の測定対象物質と、上記電極上、またはその近傍に形成された少なくとも酵素、及び電子伝達体からなる試薬層との反応により得られる電流値から、該測定対象物質の含有量を計測するバイオセンサにおいて、上記試薬層中に金属塩を含むものとしたので、試薬中に金属塩を添加するという簡易な手法を用

いることで、酵素反応等を阻害することなく、経時的なバックグラウンド電流の上昇を抑制することができるという効果が得られる。

【0061】また、本発明のバイオセンサによれば、上記試薬層に親水性高分子を含むものとしたので、親水性高分子を含むことで電極面への均質な試薬形成を容易にし、試薬層内において各々の物質が均質な分散状態になることを促進することができる。また、均質な試薬形成を実現できることにより、センサ個々のバラツキが少ない高性能なバイオセンサを提供することができるという効果が得られる。

【図面の簡単な説明】

【図1】バイオセンサの分解斜視図の一例である。

【図2】実施例1において、試薬溶液中に糖アルコールとしてラクチトールを添加した場合のセンサ応答特性を示す図である。

【図3】実施例1において、試薬溶液中に糖アルコールとしてマルチトールを添加した場合のセンサ応答特性を示す図である。

【図4】実施例1において、試料液として精製水を用いた場合の過酷環境下でのバックグラウンド電流の上昇を示す図である。

【図5】実施例1において、試料液として全血を用いた場合の過酷環境下での全血応答値の上昇を示す図である。

【図6】実施例2において、試料液として精製水を用いた場合の過酷環境下でのバックグラウンド電流の上昇を示す図である。

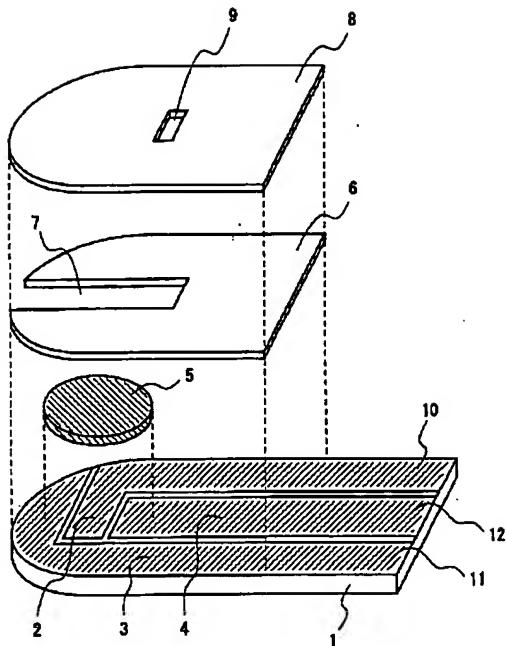
【図7】実施例2において、試料液として全血を用いた場合の過酷環境下での全血応答値の上昇を示す図である。

【符号の説明】

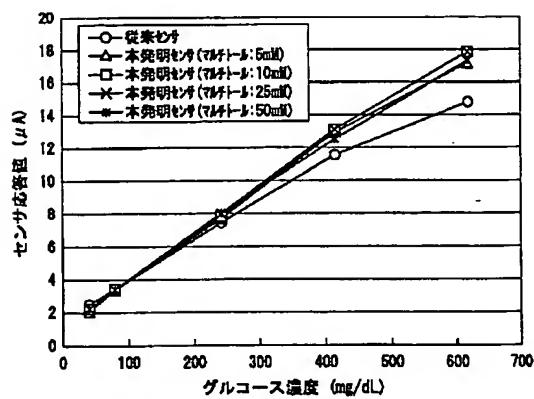
- 1 絶縁性基板
- 2 測定電極
- 3 対電極
- 4 検知電極
- 5 試薬層
- 6 スペーサ
- 7 切り欠け部
- 8 カバー
- 9 空気孔
- 10 リード（測定電極）
- 11 リード（対電極）
- 12 リード（検知電極）

(8)

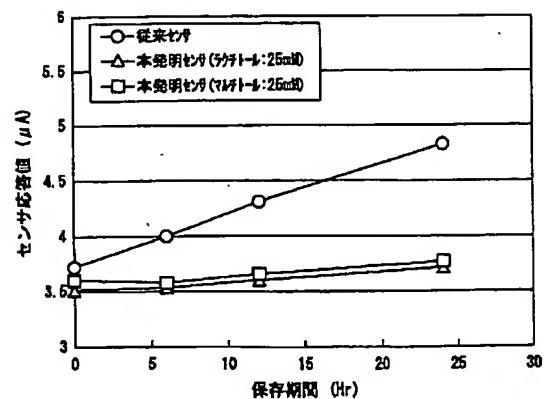
【図1】



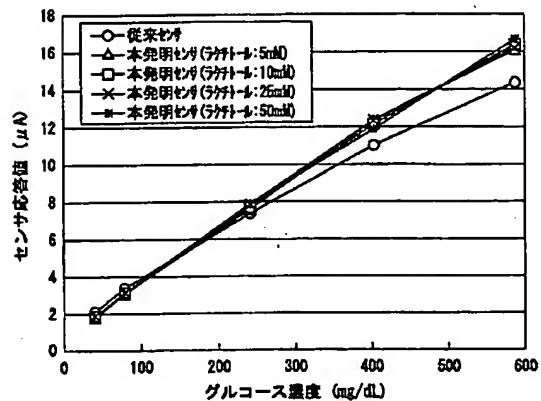
【図3】



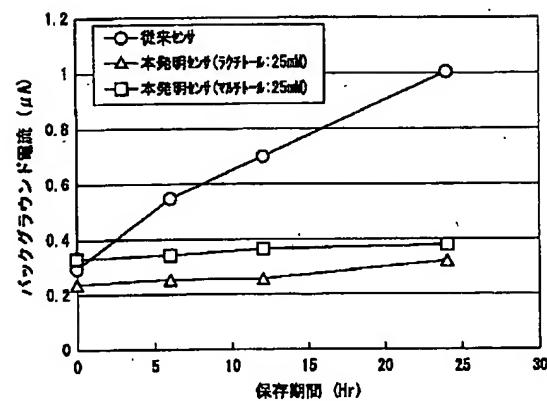
【図5】



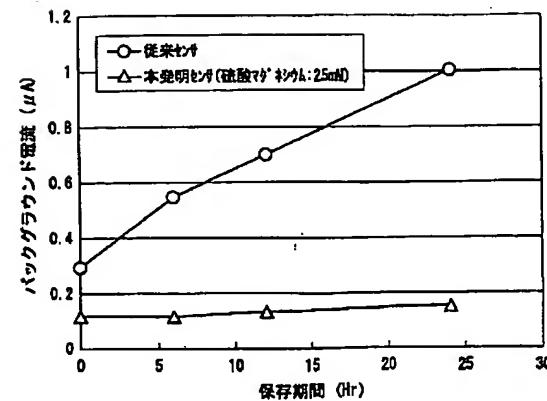
【図2】



【図4】

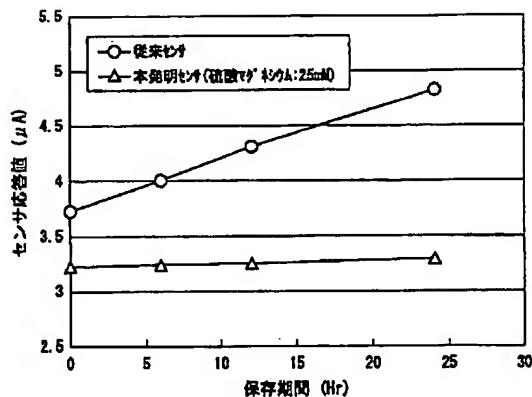


【図6】



(9)

【図7】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7

識別記号

F I

テ-マコ-ト (参考)

G 01 N 27/46

336 H

336 G

338

(72) 発明者 藤原 雅樹

香川県高松市古新町8番地の1 松下寿電
子工業株式会社内

(72) 発明者 山西 永吏子

香川県高松市古新町8番地の1 松下寿電
子工業株式会社内

(72) 発明者 中山 潤子

香川県高松市古新町8番地の1 松下寿電
子工業株式会社内

F ターム (参考) 2G045 AA13 CA25 CA26 DA04 DA31

DA53 DA58 DA69 FB01 FB05
GC20